

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift  
11 DE 3248328 A1

21 Aktenzeichen: P 32 48 328.7  
22 Anmeldetag: 28. 12. 82  
43 Offenlegungstag: 28. 6. 84

51 Int.-Cl. 3:  
C07H 15/22  
A 61 K 31/70  
A 61 K 9/08  
A 61 K 9/10

DE 3248328 A1

71 Anmelder:  
Bayer AG, 5090 Leverkusen, DE

72 Erfinder:  
Voege, Herbert, Dr., 5090 Leverkusen, DE; Stadler,  
Peter, Dipl.-Chem. Dr., 5657 Haan, DE; Zeiler,  
Hans-Joachim, Dr., 5620 Velbert, DE; Samaan,  
Samir, Dr.; Metzger, Karl-Georg, Dr., 5600  
Wuppertal, DE

Behördeneigentum

54 Schwerlösliche Salze von Aminoglykosiden sowie diese enthaltende Formulierungen mit verzögerter Wirkstoff-Freigabe

In Wasser schwerlösliche Salze von Aminoglykosiden, die gegebenenfalls an den Hydroxyl- und/oder Aminogruppen derivatisiert sind, und nicht antibiotisch wirkenden organischen Carbonsäuren oder Sulfonsäuren oder Halbestern von mehrbasischen anorganischen Säuren mit aliphatischen Alkoholen.

Patentansprüche

1. In Wasser schwerlösliche Salze von Aminoglykosiden, die gegebenenfalls an den Hydroxyl- und/oder Aminogruppen derivatisiert sind, und nicht antibiotisch wirkenden organischen Carbonsäuren oder Sulfonsäuren oder Halbestern von mehrbasischen anorganischen Säuren mit aliphatischen Alkoholen.  
5
2. Salze nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie in Wasser von 20°C eine Löslichkeit von 1 bis 1000 mg/l aufweisen.  
10
3. Salze nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Säurekomponente aus der Gruppe Embonsäure, gegebenenfalls ungesättigte Fettsäuren mit 8 bis 25 C-Atomen und Monosulfaten von Alkoholen mit 8 bis 25 C-Atomen ausgewählt ist.  
15
4. Antibiotikaformulierung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Salz nach Anspruch 1 bis 3 enthält.
5. Formulierung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine für Injektionen geeignete Form aufweist.  
20
6. Formulierung nach Anspruch 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Salz in einer öligen Trägerflüssigkeit suspendiert ist.

Le A 20 994

7. Formulierung nach Anspruch 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Korngröße des Salzes zwischen 1 und 70  $\mu$  liegt.
- 5 8. Formulierung nach Anspruch 4 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich  $\beta$ -Lactamantibiotika, gegebenenfalls in Salzform, enthält.
- 10 9. Formulierung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie 0,5 - 30 Gew.-% des Salzes (berechnet als Aminoglykosidbase) und 1 - 40 Gew.-% eines  $\beta$ -Lactamantibiotikums enthält.
10. Verwendung von Salzen nach Anspruch 1 bis 3 und Formulierungen nach Anspruch 4 bis 9 bei der Bekämpfung von bakteriellen Infektionen in der Human- oder Tiermedizin.

BAYER AKTIENGESELLSCHAFT

5090 Leverkusen, Bayerwerk

Zentralbereich

Patente, Marken und Lizenzen Sft/Kü-c

Schwerlösliche Salze von Aminoglykosiden sowie diese  
enthaltende Formulierungen mit verzögerter Wirkstoff-  
Freigabe

Antibiotika aus der Reihe der Aminoglykoside werden  
seit langem in der Human- und Veterinär-Medizin zur Be-  
kämpfung von bakteriellen Infektionen eingesetzt. Ins-  
besondere in der Veterinär-Medizin besteht bei der-  
5 artigen Erkrankungen der Wunsch, schon nach nur ein-  
maliger Injektion des Wirkstoffes einen Heilungserfolg  
zu erreichen. Dies ist zum Beispiel bei Penicillinen  
durchaus möglich, wenn den Tieren eine Suspension  
schwerlöslicher Penicillin-Salze injiziert wird,  
10 deren Wirkstoff erst nach und nach freigegeben wird.  
Dadurch wird ein wirksamer Penicillin-Blutspiegel über  
einen längeren Zeitraum erhalten und eine mehrfache  
Wiederholung der Injektion wird unnötig.

Bei Aminoglykosiden, die üblicherweise als wäßrige Lö-  
15 sung injiziert werden, ist die biologische Halbwertszeit  
relativ kurz (ca 1 h), so daß bei einer schwachen In-  
fektion mehrmals am Tage eine Injektion vorgenommen  
werden muß.

LA A 20 994

ORIGINAL INSPECTED

Es wäre also wünschenswert und für den Tierhalter und den Tierarzt eine große Erleichterung, wenn die Anzahl der Injektionen während der Erkrankung des Tieres reduziert werden könnte.

5 Injektionsformulierungen von Aminoglykosiden mit diesen Eigenschaften sind bisher nicht bekannt. Wohl sind in  
10 anderem Zusammenhang Arzneiformen beschrieben worden, bei denen Aminoglykoside kontinuierlich über einen verlängerten Zeitraum freigesetzt werden. So werden beispielsweise in den US-Patenten 4 188 373 und 4 115 544  
15 Augentropfen geschützt, die Gentamicin verzögert freisetzen. Bekannt sind auch Kunststoff- oder Keramik-Arzneiformen, die in infizierte Knochen implantiert werden und dort das Aminoglykosid kontinuierlich freigeben (siehe z.B. DE-OS 2 815 934, DE-OS 3 005 350,  
DL 139 942 oder DE-OS 2 807 132).

Auch die Herstellung schwerlöslicher Salze wurde für Aminoglykoside bereits beschrieben. Diese sind jedoch  
20 ebenfalls nur für die äußerliche Anwendung gedacht, nicht aber für Injektionsformulierungen. So werden in der DE-OS 2 301 633 wasserunlösliche Antibiotikasalze beansprucht, bei denen aus Gentamicin bzw. Polymyxin  
als Basen und Penicillin bzw. Cephalosporinen als  
25 Säuren das Salz hergestellt wird. Diese Salze haben den Nachteil, daß das Verhältnis Aminoglykosid/Penicillin-Derivat durch das Mol-Verhältnis fixiert ist und nicht dem bakteriologisch sinnvollen Optimum angepaßt werden kann.

Le A 20 994

ORIGINAL INSPECTED

Mit einer langsam Wirkstoff freisetzenden Aminoglykosid-Formulierung wäre auch ein Kombinationspräparat mit  $\beta$ -Lactamantibiotika zu verwirklichen, welches von den Nachteilen des oben beschriebenen Penicillin/Gentamicinsalzes frei ist:

Aus mikrobiologischer Sicht wäre ein Kombinationsprodukt aus Penicillin-Derivat und Aminoglykosid äußerst erwünscht, da dann fast das gesamte gramnegative sowie grampositive Bakterien-Spektrum erfaßt würde. Leider können aber zur Zeit beide Wirkstoffe nur getrennt an verschiedenen Körperstellen injiziert werden, um von beiden Wirkstoffen optimale Wirksamkeit zu erhalten. Die beiden Injektionslösungen dürfen auch wegen der Bildung des schwerlöslichen Salzes nicht vor Gebrauch in einer Spritze zusammen appliziert werden: siehe die Anwendungsempfehlungen der Aminoglykosid-Lösungs-Hersteller oder z.B. I. Carrizosa und D. Kaye, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 13 (3), S. 505 - 508 (1978) oder M. Scheer, Therapiewoche 27 S. 8904 - 8913 (1977) oder G.I. van Wingerden et al, J. Bone Joint Surg. 56 S. 1452 - 1458 (1974).

Es ist zwar bereits aus DE-OS 2 756 079 bekannt, ein Kombinationspräparat aus Aminoglykosid und Penicillin-Derivaten herzustellen, indem das Penicillin mit Polyvinylpyrrolidon und Lecithin beschichtet wird. Das getrocknete Pulver wird in sterile Glasflaschen abgefüllt und kann vor Gebrauch durch Zugabe einer wäßrigen Aminoglykosid-Lösung zum Kombinationspräparat angeschüttelt werden. Die Herstellung dieses Präparats ist jedoch aufwendig und teuer und eine "ready to use" Suspension kann so nicht hergestellt werden.

Le A 20 994



Es wurde nunmehr gefunden, daß Aminoglykosid-Formulierungen mit den gewünschten Eigenschaften (verzögerte, gleichmäßige Wirkstoff-Freigabe über einen längeren Zeitraum; Kombinationsmöglichkeit mit  $\beta$ -Lactam-Antibiotika) hergestellt werden können, wenn man von neuartigen, in Wasser schwerlöslichen Salzen der Aminoglykosid-Antibiotika ausgeht und diese vorzugsweise in einer öligen Trägerflüssigkeit suspendiert.

Gegenstand der Erfindung sind in Wasser schwer lösliche Salze von Aminoglykosidantibiotika und nicht antibiotisch wirkenden organischen Carbon- oder Sulfonsäuren oder Halbestern von mehrbasischen anorganischen Säuren mit aliphatischen Alkoholen. Gegenstand der Erfindung sind darüber hinaus auch injizierbare Antibiotikaformulierungen mit verzögerter Wirkstofffreisetzung, welche dadurch gekennzeichnet sind, daß sie die erfindungsgemäßen Salze, vorzugsweise in Form einer Suspension in einer öligen Trägerflüssigkeit, enthalten.

Unter "schwer löslich" im Sinne der vorliegenden Erfindung ist zu verstehen, daß sich bei 20°C 1 bis 1000 mg des Salzes in 1000 ml Wasser lösen, vorzugsweise 1 bis 500, besonders bevorzugt 5 bis 200 mg.

Als Aminoglykosidantibiotika sind erfindungsgemäß vorzugsweise die folgenden geeignet:

Gentamicin, Sisomicin, Etomicin, Amikacin, Streptomycin, Bluensomycin, Neomycin, Paromomycin, Lividomycin, Kanamycin, Dibekacin, Nebramycin, Ribostamycin, Butirosin,

Kasugamycin, Sagamicin, Apramycin, Verdamicin, Xylostasin, Destomycin, Hygromycin, Seldomycin, Dmtamicin, Tobramycin, Sepctinomycin und Fortimicin.

- 5 Besonders bevorzugt aus dieser Gruppe sind vor allem Gentamicin, Sisomicin, Etomicin, Amikacin, Streptomycin, Neomycin, Kanamycin, Tobramycin und Fortimicin.

- 10 In Frage kommen erfindungsgemäß auch Aminoglykoside, die an ihren Hydroxyl- und/oder Aminogruppen derivatisiert sind. Es sind dies beispielsweise, Derivate gemäß DE-OS 2 712 160 (Aminoglykoside, die an mindestens einem N-Atom einen eine Ether- oder Thioethergruppe aufweisenden Alkyl- oder Acylrest tragen), DE-OS 2 924 659 (Aminoglykoside, die an mindestens einem N-Atom einen Aminohydroxyalkylrest tragen), DE-OS 2 753 769 (1-N-  
15 Carbamoyl- und 1-N-Alkoxycarbonyl-Aminoglykoside), DE-OS 2 832 268 (Aminoglykoside, die an mindestens einen N-Atom einen Polyhydroxyalkylrest tragen), DE-OS 2 921 973 (1-N-Hydroxyalkylaminoalkyloxycarbonyl-Sisomicin), DE-OS 2 928 183 (Sisomicin, am 1-N-Atom mit sekundärem Alkyl substituiert), DE-OS 3 100 739 (am 5-O-Atom durch eine Carbamoylgruppe substituiertes Sisomicin) und DE-OS 3 101 376 (1-Hydroxyalkylurethan-Sisomicin) sowie die Pseudodisaccharide gemäß DE-OS 2 730 372.

- 25 Als Säurekomponente der erfindungsgemäßen Salze kommen alle selbst nicht antibiotisch wirkenden organischen Carbonsäuren oder Sulfonsäuren sowie auch Halbester von anorganischen Säuren mit aliphatischen Alkoholen in Frage, die mit dem jeweiligen Aminoglykosid(derivat) ein in Wasser schwer lösliches Salz bilden. Beispielhaft seien genannt:  
30

La A 20 994

Embonsäure oder Pamoä-Säure (= 4,4'-Methylen-bis-3-hydroxy-2-naphthalincarbonsäure<sup>7</sup>), 1,5-Naphthalin-disulfonat oder höhere Fettsäuren, z.B. Dodecansäure, Tetradecansäure, Hexadecansäure, Octadecansäure, Cero-  
5 tinsäure, Ölsäure, Elaidinsäure, Linolsäure oder 3-Hydroxymyristinsäure.

Bevorzugt sind unter diesen Säuren Embonsäure und gegebenenfalls ungesättigte Fettsäuren mit 8 - 25 C-Atomen, insbesondere 12 - 18 C-Atomen. In Betracht  
10 kommen auch Halbester aus zwei- oder mehrbasigen anorganischen oder organischen Säuren mit aliphatischen Alkoholen wie Monocetylsulfat oder Monocetylmalonat oder auch Ethylsuccinat. Bevorzugt sind Halb-  
15 ester von langkettigen (8 - 25, vorzugsweise 12 - 18 C-Atome) Alkoholen.

Als Trägerflüssigkeit kommen alle zur Injektion geeigneten Öle in Frage, z.B. natürliche wie Sesamöl, Erdnußöl, Mandelöl, Maiskeimöl oder Olivenöl oder synthetische Triglyceride wie z.B. ein Triglyceridgemisch ge-  
20 sättigter Pflanzenfettsäuren mittlerer Kettenlänge (C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>) oder Capryl/Caprinsäure-Triglycerid. Auch Fettsäureester wie Ethyloleat werden zu Injektions-Formulierungen benutzt.

Der Suspensionsformulierung können selbstverständlich  
25 auch weitere an sich bekannte Hilfsstoffe zugegeben werden, z.B. Netzmittel wie Lecithin oder Polyoxyethylen-Sorbitanmonooleat, Verdickungsmittel wie Aluminium-monostearat, Konservierungsmittel wie Phenole, Benzylalkohol oder p-Hydroxybenzoesäureester.

Le A 20 994

Bevorzugt werden die erfindungsgemäßen Salze in Kombination mit  $\beta$ -Lactamantibiotika eingesetzt, wobei letztere sowohl in Form der freien Säure als auch in Salzform vorliegen können. Erfindungsgemäß kommen in diesem Zusammenhang alle an sich bekannten  $\beta$ -Lactamantibiotika in Betracht, z.B. Penicilline, Cephalosporine und Oxacepheme. Beispielhaft genannt seien Ampicillin, Propicillin, Oxacillin, Dicloxacillin, Carbenicillin, Azidocillin, Mezlocillin, Azlocillin, Penicillin G, Procain-Penicillin G, Pivampicillin, Amoxicillin, Flucloxacillin, Ticarcillin, Carindacillin, Cielacillin, Epicillin, Cefaloridin, Cefalothin, Cefazolin, Cefamandol, Cefoxitin, Cefuroxim, Cephalexin, Cefradin, Cefaclor, Cefadroxil, Thienamycin und Cefotaxim.

#### Herstellung der erfindungsgemäßen Salze:

Die schwer löslichen Salze der Aminoglykosidantibiotika können hergestellt werden, indem man wäßrige Lösungen von freien basischen Aminoglykosiden oder von deren neutralen Salzen mit anorganischen oder organischen Säuren zur Reaktion bringt mit wäßrigen Lösungen von Salzen z.B. der höheren Fettsäuren oder der Embonsäure. Die Reaktionstemperatur liegt in der Regel im Bereich zwischen 5° und 95°C, bevorzugt zwischen 50° und 80°C. Der gebildete schwer lösliche Niederschlag wird anschließend abgesaugt, mit Wasser gut nachgewaschen und nach den üblichen Methoden getrocknet.

Herstellung der Formulierung:

Die erfindungsgemäßen Aminoglykosid-salze können z.B. in einer Menge von 0,5 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise von 1 - 15 Gew.-% (berechnet jeweils als Aminoglykosid-base), bezogen auf die gesamte Formulierung, in den Träger eingebracht werden. Der Anteil der Hilfsstoffe kann zwischen 0,05 und 10 Gew.-%, vorzugsweise 0,2 - 5 Gew.-%, schwanken. Der Anteil der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika in der Kombinationsformulierung kann z.B. zwischen 1 und 40 Gew.-%, vorzugsweise 10 - 30 Gew.-% betragen (jeweils bezogen auf gesamte Formulierung).

Die Herstellung der spritzfertigen Suspensionen geschieht in an sich bekannter Weise unter aseptischen Bedingungen.

- 15 A) Das gewünschte Salz wird steril auf eine bestimmte Korngröße hin gefällt oder es wird das sterile Salz unter aseptischen Bedingungen gemahlen. Die Korngröße sollte vorzugsweise zwischen 2 und 60  $\mu\text{m}$  liegen, besonders bevorzugt zwischen 5 und 30  $\mu\text{m}$ .
- 20 B) Die gemahlene Substanz wird in das vorher sterilisierte Suspensionsmittel eingebracht und homogenisiert. Die homogene Suspension wird unter sterilen Bedingungen abgefüllt.

25 Die im folgenden aufgeführten Formulierungsbeispiele wurden nach obiger Vorschrift unter einem Laminar Flow Zelt hergestellt.

Le A 20 994

3248328

Beispiele

Einsatzstoffe	A	B	C	D	E	F	G	H
Etomicinsulfat ( $\hat{=}$ 1 % Base)	1,6 g	1,6 g						
Natriumsulfat	0,2 g							
Wasser pro injection	ad 100 ml							
2 %iges Aluminium monostearat Gel mit Sesamöl		ad 100 ml				ad 100 ml		
Etomicin-Embonat ( $\hat{=}$ 1,0 g Base)			3,46 g			3,46 g		
Ethyloleat			ad 100 ml					
Etomicin-Hexa- decanat ( $\hat{=}$ 1,0 g Base)				4,15 g				
Etomicin-Dodecanat ( $\hat{=}$ 1,0 g Base)					3,49 g			
Sesamöl				ad 100 ml	ad 100 ml		ad 100 ml	ad 100 ml
Penicillin G Kalium						6,30 g		

Le A 20 994

BAD ORIGINAL

Beispiele (Fortsetzung)

Einsatzstoffe	A	B	C	D	E	F	G	H
Gentamicin- Embonat ( $\hat{=}$ 1,0 g Base)							3,48 g	
Sisomicin-pentä- embonat ( $\hat{=}$ 1,0 g Base)								3,69 g

Le A 20 994

Von diesen Formulierungen wurden in folgender Weise die Blutspiegel des Aminoglykosids bestimmt:

Die Formulierungen wurden in entsprechenden Dosierungen bei Beagle-Hunden intramuskulär appliziert. Zu verschiedenen Zeiten nach Behandlung wurden Blutproben entnommen und durch Zentrifugation das Serum genommen. Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes im Serum erfolgte mikrobiologisch mit Hilfe des Agardiffusionstestes (Lochtest). Als Nachweiskeim wurde der Stamm *Bacillus subtilis* ATCC 6633, als Testmedium DST-Agar verwendet. Anhand eines Standards in Puffer wurde der Wirkstoffgehalt in den verschiedenen Serumproben bestimmt. Die Ergebnisse (siehe Tabelle) zeigen, daß nach Applikation der schwerlöslichen Salze therapeutisch relevante Blutspiegel über wesentliche längere Zeit erreicht wurden, als z.B. mit den entsprechenden wasserlöslichen Sulfaten. Infolge der deutlichen Verlängerung der Halbwertszeit bieten diese Formulierungen entscheidende Vorteile für die Therapie.



- 12 -  
14

Tabelle 1

## Serumspiegel Hund/intramuskulär

Formulierungs- beispiele	Etomicinsalz	Dosis mg/kg	Halbwertszeit (h)	Serumkonzentration (µg/ml) 1h 8 h 12 h
B	Sulfat	4	1	9,5 0,2 -
	Embonat	4	1,8	5 0,7 -
	Sulfat + Embonat	4	2	7,5 0,46 -
E	Dodecanat	4	2,5	8,8 1,3 0,36
		4	2,3	7,8 0,7 0,1
		1	2	1,4 0,15 -
D	Hexadecanat	4	3,9	4,4 1,3 0,36
		4	3,9	3,1 0,84 0,45
		1	2,4	2 0,3 -

Le A 20 994

BAD ORIGINAL

